用冰冻蚀刻法研究上皮细胞的紧密连接和缝隙连接

凌诒萍　陈细法　俞永富　钟慈声
（上海第一医学院电子显微镜室）

我们对小鼠小肠、胃、肝、肾及人体肝组织进行冰冻蚀刻复型，用其复型膜进行电镜观察，並结合透射电镜超薄切片的观察进行分析。在超薄切片中我们看到的紧密连接是两相邻细胞质膜外叶层相触合而成的一条浓线，经高倍放大后，实际上能看到的是一条呈点状的不连续的虚线。在冰冻蚀刻图象中所看到的紧密连接乃是一片不同层次、不同形状的网状结构，有的排列整齐，且层数多，如小鼠胃上皮（图1）及小肠上皮（图2）的紧密连接其网格层次较多，可有4至8层；有的排列不规则，如小鼠肝实质细胞（图3）的紧密连接，在有的地方可排成2至3层的网格，但有些地方呈游离的单线，断断续续；小鼠肾近曲小管上皮的紧密连接很不发达，其网格数仅1至2层，又往往不相连续。紧密连接的网格在PF面表现为突出于表面的嵴，在EF面上则表现为相应的网状浅沟。

缝隙连接在超薄切片标本中表现为一相距20Å的板状间隙，这种间隙很小，以至常常被误认为紧密连接。在冰冻蚀刻图片上所见PF面的缝隙连接是一片多角形颗粒的密集区，颗粒大小为80～90Å，多呈规则的点阵排列；在EF面上，则是相应的小凹。我们所观察到的缝隙连接，有时其EF面上的大凹不及PF面上的颗粒明显，这一现象可能与标本制备过程中某些步骤有关，如因热辐射引起的变形或喷涂的金属颗粒在小凹内的堆积等原因所致。紧密连接和缝隙连接可各自单独存在，也可相间分布，並在不同组织中的发育程度各异。如小肠、胃上皮游离端的紧密连接发达；肝细胞膜上的缝隙连接（图4）呈大片状。上皮细胞之间的缝隙连接与紧密连接相间分布或位于其深处。如图3见缝隙连接分布于紧密连接的网格之中。

结合超薄切片图象与冰冻蚀刻图象进行分析，可认识到在超薄切片中紧密连接所见到的质膜外叶层的点状触合线就是冰冻蚀刻图中网状结构的断面，这两种图象结合起来分析，使我们对紧密连接的结构得到进一步的认识。这些网状结构可能就是两相邻细胞嵌入在膜内的内在性蛋白分子彼此紧密相邻、触合並排列成网状而构成的，它在上皮细胞的顶端形成一个阻止物质自由通过的屏障，对不同上皮紧密连接处的网状结构来说，层次越多者，其阻止物质通透的性能越好。至于构成缝隙连接的颗粒，则认为是多角形、中心有孔的蛋白质结合物，离子或代谢有关的物质（分子量1000～2000）可以通过中心小孔，在两相邻细胞内互通，而不漏入细胞间隙，成为细胞间物质交换的直接通道。在肝细胞间存在着大片的缝隙连接，这一点过去注意不够，这可保证肝细胞旺盛的代谢功能所需的细胞间联系。



图版说明

图1.小鼠胃上皮细胞　上皮细胞游离面见微绒毛（*Vi*），紧靠游离面处为一片呈网状排列的紧密连接（*TJ*）。 27000×

图2.小鼠小肠上皮细胞　图中有一片排列整齐的紧密连接（*TJ*），其大部分为由嵴状突起组成网格的*PF*面，下面一部分为*EF*面，表现为相应的网状浅沟。 36000×

图3.小鼠肝细胞　图大部分为质膜的*PF*面，右下角为一片缝隙连接（*GJ*），表现为整齐而排列紧密的颗粒。左边为紧密连接（*TJ*），可见由突起的嵴组成的网状结构。图左上角为邻近一细胞质膜的*EF*面，紧密连接表现为网状凹槽。有少数缝隙连接的颗粒（➡）夹杂在紧密连接的网格内。 96000×

图4.小鼠肝细胞　图左下方示质膜的*PF*面，缝隙连接（*GJ*）为一堆密集的颗粒，图右上方为相邻细胞*EF*面的缝隙连接，表现为一片与*PF*颗粒大小相同的凹陷。 160000×